

Proporsi Spermatozoa Y Hasil Pemisahan Dengan Fraksi Albumen Telur dan Lama Penyimpanan Semen Domba Lokal

Tedi Akhdiat¹

¹ Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Bandung Raya

Intisari

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas dan proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan semen domba lokal dengan beberapa fraksi albumen telur dan lama penyimpanan yang berbeda. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola Faktorial yang terdiri dari 2 faktor dengan ulangan 4 kali. Faktor pertama F (fraksi albumen telur) dengan level : $f_1 = 5$ dan 25 %, $f_2 = 10$ dan 30 %, $f_3 = 15$ dan 35 %, faktor kedua L (lama penyimpanan) dengan level : $l_0 = 0$ jam, $l_2 = 2$ jam, $l_4 = 4$ jam. Variabel yang diamati yaitu : motilitas (%), spermatozoa hidup (%), abnormalitas (%), dan proporsi spermatozoa Y (%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara faktor F dan L terhadap keseluruhan variabel yang diamati ($P > 0,05$). Pengaruh faktor F terhadap motilitas, spermatozoa hidup, dan abnormalitas tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), tetapi terhadap proporsi spermatozoa Y berbeda nyata ($P < 0,05$). Pengaruh faktor L terhadap motilitas berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dan terhadap spermatozoa hidup berbeda nyata ($P < 0,05$), tetapi terhadap abnormalitas sperma dan proporsi spermatozoa Y tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Penyimpanan spermatozoa Y hasil pemisahan selama 4 jam, menghasilkan rata-rata motilitas dan spermatozoa hidup masing-masing sebesar 61,67 dan 63,25 % dengan konsentrasi $932,54 \pm 76,34$ juta spermatozoa/ml semen, sedangkan fraksi albumen f_2 (10 dan 30 %) menghasilkan kualitas spermatozoa tertinggi dengan motilitas dan spermatozoa hidup 71,67 dan 74,79 %.

Kata kunci : Spermatozoa Y, fraksi albumen dan semen domba

Abstract

This research was conducted to determine the quality and proportion of Y-spermatozoa with more fraction of egg white and storage period. The experimental method with completely Randomized Design base on Factorial consist of two factor were used. The first factor was F (egg white) consist of level $f_1 = 5$ and 25 %; $f_2 = 10$ and 30 %; $f_3 = 15$ and 35 %; and second factor is L (storage period) consist of level $l_0 = 0$ hours; $l_2 = 2$ hours; $l_4 = 4$ hours. Each treatment was replicated four times. The variable measured were motility(%), live spermatozoa (%), abnormality (%), and proportion of Y-spermatozoa. The results showed that fraction and storage period had no significant interaction ($P > 0.05$) on the all variable. The effect fraction of egg white showed no significant ($P > 0.05$) difference on percentages motility, live spermatozoa, and abnormality. However the fraction showed significant ($P < 0.05$) on difference proportion of Y-spermatozoa. The effect of storage period showed highly significant ($P < 0.01$) difference on motility and significant ($P < 0.05$) difference on live spermatozoa. However, the storage periode showed no significant ($P > 0.05$) difference on abnormality, and proportion of Y-spermatozoa. Kept of spermatozoa for four hours product mean of motility 61.67 percent, live spermatozoa 63.25 percent, consentration were 932.54 ± 76.34 million spermatozoa/ml of semen, while albumen fraction of f_2 (10 and 30 %) gave the highest result in motility and live spermatozoa : 71.67 and 74.79 %, respectively.

Key words : Y-spermatozoa, fraction of egg white, ram semen

Pendahuluan

Pemanfaatan teknologi pemisahan (separasi) spermatozoa merupakan salah satu pilihan yang tepat dalam rangka peningkatan efisiensi reproduksi yang mampu meningkatkan efisiensi usaha peternakan, baik dalam skala usaha peternakan rakyat maupun dalam skala komersial, sehingga peternak dalam usahanya dapat memilih jenis kelamin ternak yang sesuai dengan keinginan dalam rangka menyesuaikan tipikal usahanya.

Pengendalian jenis kelamin anak sebelum lahir dapat dilakukan melalui pemisahan spermatozoa X dan Y pada domba yaitu dalam upaya mengubah proporsi 50 : 50 anak yang dilahirkan jantan dan betina secara alamiah. Pemisahan kromosom ini salah satunya dapat dilakukan dengan metode sedimentasi dengan albumen telur (putih telur). Metode ini didasarkan atas perbedaan motilitas spermatozoa X dan Y sebagai implikasi dari perbedaan massa dan ukuran spermatozoa Y lebih kecil dibandingkan spermatozoa X, sehingga sperma Y lebih cepat bergerak atau mempunyai daya penetrasi yang tinggi untuk masuk ke suatu larutan seperti albumen telur (putih telur).

Pemisahan spermatozoa salah satunya yaitu pembuatan fraksi albumen telur yang berbeda konsentrasinya, sehingga spermatozoa Y yang mempunyai motilitas tinggi akan mampu menembus konsentrasi medium yang lebih pekat, sedangkan spermatozoa X akan tetap berada pada medium yang mempunyai konsentrasi rendah.

Menurut Maxwell *et al.* (1984) efisiensi dari usaha mengubah ratio sperma X dan Y dipengaruhi oleh

konsentrasi albumen dan lamanya waktu sperma domba tersebut menembus cairan albumen serta konsentrasi sperma dalam pengencer yang akan dipisahkan. Medium yang optimal untuk menghasilkan spermatozoa yang membawa kromosom X dan Y serta memiliki motilitas yang tinggi yaitu dengan kombinasi medium putih telur 10 dan 30 %. Lamanya waktu masa inkubasi (masuknya spermatozoa ke dalam fraksi albumen) pada semen sapi potong yaitu selama 20 menit pada suhu 5 °C (Pamungkas, *dkk.*, 2004).

Spermatozoa X dan Y dalam pergerakan atau motilitas, memerlukan energi dari metabolisme yang hasil ikutannya bisa sebagai asam laktat sehingga pH lingkungan spermatozoa akan turun yang akhirnya dapat menurunkan kualitas spermatozoa seperti motilitas, daya hidup, dan abnormalitas.

Hasil pemisahan (separasi) spermatozoa pada semen domba dengan menggunakan berbagai fraksi albumen telur kemudian hasil pemisahannya ditambahkan bahan pengencer dan disimpan selama 4 jam pada temperatur 5⁰ C, ini akan memperlambat proses metabolisme spermatozoa yang akhirnya akan menekan penurunan kualitas spermatozoa X dan Y.

Berdasarkan atas masalah perbedaan motilitas, ukuran spermatozoa, konsentrasi albumen telur, dan pemisahan dengan menggunakan semen domba belum dilakukan, maka akan dikaji mengenai kualitas dan proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan dari semen domba yang disimpan pada temperatur 5⁰ C dengan menggunakan fraksi putih telur (albumen) dan lamanya penyimpanan.

Metode Penelitian

Materi percobaan adalah semen dari domba lokal berumur sekitar dua tahun sejumlah tiga ekor berasal dari

Eksperimental Farm Fakultas Peternakan Unsoed. Bahan-bahan percobaan yang digunakan meliputi : fruktosa, alkohol, larutan eosin-negrosin, vaslin, aquades, larutan Tris, dan putih telur.

Alat-alat Percobaan : satu set vagina tiruan, gelas ukur, mikroskop monitor, *object glass* dan *cover glass*, pipet Haemocytometer dan kamar hitung Neubauer, gelas penampung semen, termos es, batang pengaduk, gelas erlemeyer, timbangan elektrik, tabung reaksi, sentrifuge digital dan tabungnya, termometer, dan peralatan lainnya yang menunjang untuk percobaan.

Metode Penelitian

Metode penenilitan adalah eksperimen dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap pola Faktorial yang terdiri dari 2 faktor dengan ulangan empat kali berupa penyadapan. Faktor pertama F (fraksi albumen telur) dengan level : $f_1 = 5$ dan 25 %; $f_2 = 10$ dan 30 %; $f_3 = 15$ dan 35 %. Faktor kedua L (lama penyimpanan) dengan level : $l_0 = 0$ jam; $l_2 = 2$ jam, $l_4 = 4$ jam.

Prosedur Penelitian

Persiapan penelitian meliputi : persiapan bahan kimia, perlengkapan laboratorium, pemberian obat cacing, latihan penyadapan, dan evaluasi semen. Pelaksanaan Penelitian :

- 1) Menampung dan mengevaluasi semen segar secara makrokopis dan mikrokopis. Untuk memenuhi volume semen penelitian maka dilakukan komposit dan penambahan pengencer dengan Tris fruktosa, sehingga volume menjadi 3 ml.
- 2) Meyediakan 3 tabung reaksi, tabung reaksi pertama diisi fraksi albumen telur $f_1 = 5$ dan 25 % ; kedua diisi fraksi albumen $f_2 = 10$ dan 30 % ; yang ketiga diisi fraksi albumen $f_3 = 15$ dan 35 %. Isi

Peubah yang Diamati

a. Motilitas Spermatozoa (%)

Diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10×10 dan 10×40 , spermatozoa bergerak dan yang tidak bergerak, kemudian

tabung reaksi f_1 dengan 25 % albumen telur yang telah dicampur Tris-fruktosa sebanyak 2 ml, kemudian disusul dengan yang 5 % sebanyak 2 ml secara perlahan-lahan melalui dinding tabung sehingga pada masing-masing tabung terjadi dua lapisan (volume 4 ml). Pembuatan fraksi albumen telur untuk f_2 dan f_3 sama dengan pembuatan perlakuan f_1 .

- 3) Memasukan semen yang telah dievaluasi ke masing-masing tabung reaksi yang telah berisi fraksi albumen telur sebanyak 1 ml, kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 50°C .
- 4) Tabung reaksi yang telah diinkubasi, bagian atasnya 3 ml dibuang sedangkan bagian bawahnya diambil 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge dan ditambahkan Tris-fruktosa 2 ml kemudian disentrifugasi 1500 rpm selama 5 menit.
- 5) Hasil sentrifugasi masing-masing bagian atasnya dibuang dan yang bawahnya disisakan 1 ml kemudian ditambahkan pengencer Tris-fruktosa 1 ml. Pengamatan dilakukan setiap 0, 2, dan 4 jam mengenai motilitas, abnormalitas, hidup dan matinya spermatozoa, pH, dan ukuran kepala spermatozoa Y. Pengamatan konsentrasi hanya dilakukan pada saat penyimpanan 0 jam.
- 6) Fraksi albumen 10 dan 30 %; 15 dan 35 % prosedur kerjanya sama seperti nomor 4 sampai dengan 6.

dibandingkan dengan keseluruhan dalam satu bidang pandang.

b. Spermatozoa hidup (%)

Penghitungan spermatozoa hidup dengan preparat ulas langsung dilakukan dengan mikroskop

pembesaran 10 x 40. Dihitung spermatozoa hidup (tidak menyerap warna) dan yang mati (menyerap warna merah) sejumlah 200 spermatozoa.

c. Abnormalitas Spermatozoa (%)

Penghitungan abnormalitas spermatozoa dilihat dengan mikroskop pembesaran 10 x 40 berdasarkan abnormalitas primer dan sekunder. Sebelumnya dibuat preparat ulas seperti untuk menghitung spermatozoa yang hidup dan mati.

e. Proporsi spermatozoa Y (%)

Pengukuran luas kepala spermatozoa dengan membuat preparat ulas dari semen segar sebagai standar

dengan cara mengukur panjang dan lebar kepala spermatozoa. Jumlah sampel sebanyak 200 sel spermatozoa dengan menggunakan mikroskop pembesaran 10 x 40 yang dilengkapi monitor, sehingga diperoleh rata-ratanya. Masing-masing perlakuan hasil pemisahan kemudian dihitung ukuran kepala spermatozoa sejumlah 200 sel spermatozoa dan dibandingkan dengan rata-rata ukuran spermatozoa yang belum dilakukan perlakuan (standar). Diatas atau lebih besar sama dengan rata-rata standar masuk kedalam sperma X dan dibawah standar masuk kedalam sperma Y.

$$\text{Lapisan bawah = } \frac{\text{Jml Sperma Y}}{\text{Jml Sperma X dan Y}} \times 100 \%$$

Analisis Data

Menggunakan Anava, BNJ, dan regresi sederhana (Gaspersz, 1991).

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama bulan Mei 2006 di Laboratorium Fisiologi dan Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman.

Hasil Dan Pembahasan

Evaluasi Semen Segar Domba

Hasil evaluasi semen segar secara makroskopis dan mikroskopis dapat memenuhi syarat untuk dilakukan penelitian lebih lanjut (Tabel 1).

Tabel 1. Kualitas Semen Segar dan Ukuran Kepala Spermatozoa Domba Lokal

No.	Parameter	Rataan
1.	Volume (ml)	0,98 ± 0,01
2.	Warna	Kream
3.	Konsistensi	Kental
4.	pH	6,24 ± 0,02
5.	Gerakan Massa	+++
6.	Konsentrasi (juta spermatozoa /ml semen)	2600,00 ± 130,59
7.	Motilitas (%)	82,50 ± 1,61
8.	Spermatozoa hidup (%)	87,96 ± 2,59
9.	Abnormalitas (%)	3,31 ± 0,71
10.	Ukuran kepala spermatozoa : panjang	7,30 ± 0,23 µm
	lebar	4,25 ± 0,13 µm
	luas	31,01 ± 2,00 µm ²

Perbedaan dari beberapa hasil penelitian terdahulu diduga pengaruh faktor umur, kondisi hewan percobaan, bangsa, pakan, frekuensi ejakulat, umur, bobot badan, rekuensi penampungan, bangsa atau jenis ternak, dan metode penampungan.

Interaksi Faktor F dan L Terhadap Motilitas, Spermatozoa Hidup, Abnormalitas, pH, dan Proporsi Sperma Y

Tidak ada interaksi ($P > 0,05$) antara faktor F (fraksi albumen) dan L (lama penyimpanan) spermatozoa hasil pemisahan terhadap motilitas, spermatozoa hidup, abnormalitas, pH, dan proporsi sperma Y. Hal ini menunjukkan bahwa F dan L tidak mempunyai pengaruh bersama terhadap variabel yang diamati.

Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Motilitas Spermatozoa

Efek mandiri F berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa, diduga media albumen yang digunakan hanya mempengaruhi jumlah spermatozoa yang dipisahkan serta ketersediaan energi yang dikandung Tris-fruktosa yang ditambahkan pada proses pemisahan relatif sama. Sesuai pendapat Hafez (1993), bahwa salah satu faktor utama yang mempengaruhi motilitas spermatozoa adalah ketersediaan energi ATP. Namun secara numerik perlakuan f_2 (10 dan 30 %) menghasilkan motilitas tertinggi, yaitu 71,67 % dibandingkan f_1 (70,42 %), dan f_3 (65,83 %).

Efek mandiri L terhadap motilitas berbeda nyata ($P < 0,05$). Uji BNJ (Tabel 2),

Tabel 2. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Rataan Motilitas Spermatozoa (%)

Lama Penyimpanan (jam)	Rataan Motilitas (%)
l_0 (0 jam)	80,00 ^a
l_2 (2 jam)	66,25 ^b
l_4 (4 jam)	61,67 ^b

Keterangan :

Superskrip yang sama ke arah kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Superskrip yang berbeda ke arah kolom menunjukkan perberbedaan nyata ($P < 0,05$)

Faktor tunggal L terhadap motilitas, ternyata rata-rata motilitas spermatozoa yang disimpan 0 jam berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan disimpan pada 2 jam dan 4 jam, sedangkan untuk yang disimpan 2 dan 4 jam menunjukkan perberbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$). Ini berarti lama penyimpanan dapat mempengaruhi menurunkan motilitas

Berpengaruhnya lama penyimpanan dari 0 ke 2 jam dan 0 ke 4 jam disebabkan adanya penurunan zat makanan bagi spermatozoa dan adanya peningkatan jumlah spermatozoa yang mati pada saat penyimpanan spermatozoa dari temperatur ruang ke

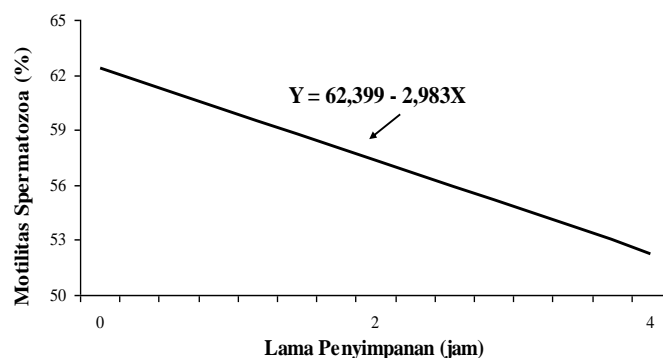
spermatozoa dari 0 jam ke 2 dan 4 jam, adapun mulai dari 2 ke 4 jam tidak begitu berpengaruh. Tidak berpengaruhnya lama penyimpanan dari 2 ke 4 jam terhadap rata-rata motilitas spermatozoa diduga interval waktu pengamatan terlalu pendek, namun demikian dari angka rata-rata persentase motilitas masih tetap mengalami penurunan.

temperatur dingin ($\pm 5^\circ \text{C}$). Sesuai dengan pendapat Shukla et al. (1992) bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi motilitas sperma adalah perubahan temperatur. Spermatozoa domba yang telah mengalami proses separasi kemudian disimpan selama 4

jam pada suhu 5⁰ C rata-rata motilitas yaitu 61,67 %, ternyata masih bisa digunakan untuk IB. Sesuai pendapat Toelihere (1993) bahwa standar minimum bagi kualitas semen yang dapat dipakai untuk IB adalah minimal mengandung 500 juta sel per ml ejakulat dan 50 % sperma yang hidup dan motil.

Hasil analisis regresi (Gambar 1) terlihat bahwa semakin lama penyimpanan sperma pada suhu 5⁰ C maka motilitas spermatozoa domba akan semakin menurun dengan mengikuti

persamaan garis regresi $Y = 62,399 - 2,983X$. Keeratan hubungan antara lama penyimpanan dan motilitas spermatozoa ditunjukkan oleh koefisien determinasi (r^2) sebesar 0,5321, ini berarti lama penyimpanan dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa domba sebesar 53,21 %, sedangkan sisanya dipengaruhi oleh faktor-faktor lain misalnya frekuensi ejakulat, pakan, metode penampungan, penanganan dan perawatan sesudah penampungan, umur, bangsa dan lain sebagainya.



Gambar 1. Hubungan antara Lama Penyimpanan dan Motilitas Spermatozoa Domba

Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Spermatozoa Hidup

Efek mandiri pengaruh F terhadap spermatozoa hidup tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Pengaruh efek mandiri untuk L berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap spermatozoa hidup. Tidak berpengaruhnya F terhadap spermatozoa hidup, diduga kandungan-kandungan pada putih telur serta penggunaan Tris sebagai buffer dan pencuci plasma semen ini bisa digunakan sebagai bahan mempertahankan kehidupan spermatozoa selama proses separasi. Sesuai dengan pendapat Martin et al. (1983) yang disitir oleh Pancastana

(1999) dalam albumen terdapat zat lysozim, merupakan senyawa protein mengandung antibiotika yang dapat menghancurkan beberapa bakteri dalam hal ini zat yang dapat membunuh spermatozoa yang telah dipisahkan (pada lapisan 30 % putih telur). Namun secara numerik perlakuan f_2 (10 dan 30 %) menghasilkan spermatozoa tertinggi (74,79 %) dibandingkan f_1 (70,54 %) dan f_3 (71,33 %).

Efek mandiri L terhadap spermatozoa hidup berbeda nyata ($P < 0,05$). Uji BNJ (Tabel 3).

Tabel 3. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Rataan Spermatozoa Hidup (%)

Lama Penyimpanan (jam)	Rataan Spermatozoa Hidup (%)
I ₀ (0 jam)	79,38 ^a
I ₂ (2 jam)	74,04 ^{ab}
I ₄ (4 jam)	63,25 ^b

Keterangan :Superskrip yang sama kearah kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)Superskrip yang berbeda kearah kolom menunjukkan perberbedaan nyata ($P < 0,05$)

Rataan spermatozoa hidup yang disimpan 0 jam berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan yang disimpan 4 jam, sedangkan dibandingkan dengan 2 jam berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Adapun spermatozoa hidup yang disimpan 2 jam berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dibandingkan dengan yang disimpan 4 jam.

Lama penyimpanan berpengaruh menurunkan spermatozoa hidup terutama yang disimpan dari 0 ke-4 jam, sedangkan dari 0 ke-2 jam dan dari 2 jam ke-4 jam tidak begitu berpengaruh menurunkan spermatozoa hidup.

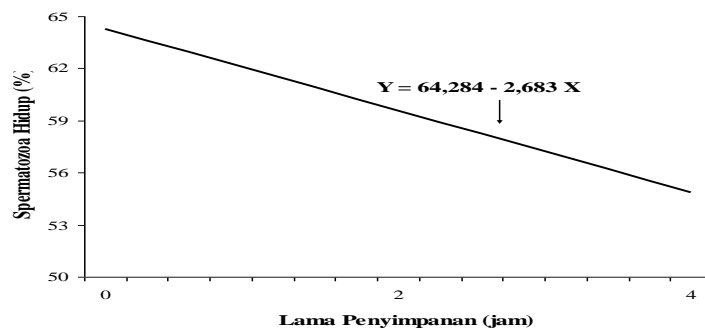
Tidak berpengaruhnya lama penyimpanan 0 dengan 2 jam dan 2 dengan 4 jam terhadap spermatozoa hidup diduga interval waktu pengamatan terlalu pendek dan spermatozoa hasil separasi untuk I₂ dan I₄ disimpan pada temperatur 5⁰ C, sehingga akan menghambat aktifitas metabolisme yang selanjutnya akan mengurangi hasil ikutan metabolisme sperma. Namun demikian dari angka rata-rata spermatozoa hidup masih tetap mengalami penurunan. Adanya pengaruh lama penyimpanan terhadap penurunan rata-rata spermatozoa hidup, diduga tidak ditambahkannya kuning telur pada Tris-fruktosa. Kuning telur bisa mengurangi cold shock juga mengandung sumber zat makanan seperti fruktosa, laktosa, rafinosa, asam-asam amino dan vitamin-vitamin serta sperma hasil pemisahan yang disimpan pada temperatur 5⁰ C selama 4 jam masih mengalami proses

metabolisme, dan hasil ikutan metabolisme ini dapat membunuh spermatozoa.

Hasil penelitian dari Tabel 3, terlihat spermatozoa domba yang telah mengalami proses separasi kemudian disimpan selama 4 jam pada suhu 5⁰ C diperoleh rata-rata spermatozoa hidup 63,25 %, ternyata masih bisa digunakan untuk IB. Hasil penelitian Susilawati dkk. (2002) separasi sperma sapi Brahman dengan menggunakan pengencer Tris Aminomethan kuning telur dan Tris Aminomethan tanpa kuning telur diperoleh persentase spermatozoa hidup pada fraksi bawah masing-masing 76,84 ± 12,62 % dan 66 ± 16,79 %. Sedangkan menurut Memon dan Ott (1981) cepatnya penurunan kualitas semen ini tidak terlepas dari tingginya tingkat konsentrasi spermatozoa pada pengencer.

Berdasarkan Gambar 2, semakin lama spermatozoa hidup hasil separasi yang disimpan selama 4 jam pada suhu 5⁰ C maka spermatozoa akan semakin menurun kualitasnya dengan mengikuti persamaan garis regresi linier $Y = 64,284 - 2,683 X$.

Koefisien determinasi (r^2) spermatozoa hidup adalah 0,2380, berarti lama penyimpanan dapat mempengaruhi spermatozoa hidup sebesar 23,80 %, sisanya dipengaruhi oleh faktor-faktor lain misalnya penanganan dan perawatan semen sesudah penampungan.



Gambar 2. Hubungan antara Lama Penyimpanan dan Spermatozoa Hidup

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Efek mandiri F dan L terhadap abnormalitas sperma tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$). diduga kandungan albumen, bahan pengencer, dan penyimpanan sperma hasil pemisahan pada temperatur 5°C selama 4 jam tidak merubah keadaan morfologis spermatozoa domba. Kerusakan morfologis spermatozoa bisa disebabkan adanya gangguan pada tubuli seminiferi dan pada testis, gangguan selama perjalanan dalam saluran reproduksi jantan, dan gangguan selama pasca ejakulasi, sesuai menurut Toelihere (1993), bahwa penyimpanan semen untuk waktu yang memadai tidak menyebabkan abnormalitas primer.

Kombinasi level f dan l dari persentase abnormalitas spermatozoa domba berkisar antara 2,50 – 7,38 %. Pamungkas dkk. (2004) melakukan penelitian pada semen sapi PO dengan menggunakan bahan pemisah albumen dari putih telur, ternyata diperoleh persentase abnormalitas sperma Y yang dihasilkan 8,81 % pada pasca sentrifugasi (1500 rpm selama 5 menit), dan 10,32 % pada pasca ekulibrasi (3 jam, suhu 5°C). Sesuai pendapat Toelihere, (1993) bahwa semen domba yang fertil tidak boleh

mengandung lebih dari 5 sampai 15 % spermatozoa abnormal atau kelainan morfologik di bawah 20 % masih dianggap normal. Menurut Hafez (1993) semen domba mengandung spermatozoa normal antara 80 sampai 95 %.

Pengaruh Perlakuan terhadap Proporsi Spermatozoa Y

Efek mandiri faktor F terhadap proporsi spermatozoa Y berpengaruh nyata ($P < 0,05$), Adapun tidak berpengaruhnya efek mandiri faktor L terhadap proporsi spermatozoa ($P > 0,05$), artinya lama penyimpanan spermatozoa hasil pemisahan yang disimpan selama 4 jam dalam temperatur 5°C tidak akan merubah proporsi spermatozoa Y. Proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan berkaitan erat dengan proses perlakuan saat pelaksanaan pemisahan semen domba. Sesuai pendapat Maxwell *et al.* (1984) efisiensi dari usaha mengubah ratio sperma X dan Y dipengaruhi oleh konsentrasi albumen dan lamanya waktu sperma domba tersebut menembus cairan albumen serta konsentrasi sperma dalam pengencer yang akan dipisahkan.

Hasil BNJ (Tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh Fraksi Albumen terhadap Proporsi Spermatozoa Y (%)

Fraksi Albumen (%)	Rataan Proporsi Spermatozoa Y (%)
f ₂ (10 dan 30 %)	63,58 ^a
f ₃ (15 dan 35 %)	58,33 ^{ab}
f ₁ (5 dan 25 %)	38,63 ^b

Keterangan :

Superskrip yang sama kearah kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Superskrip yang berbeda kearah kolom menunjukkan perberbedaan nyata ($P < 0,05$)

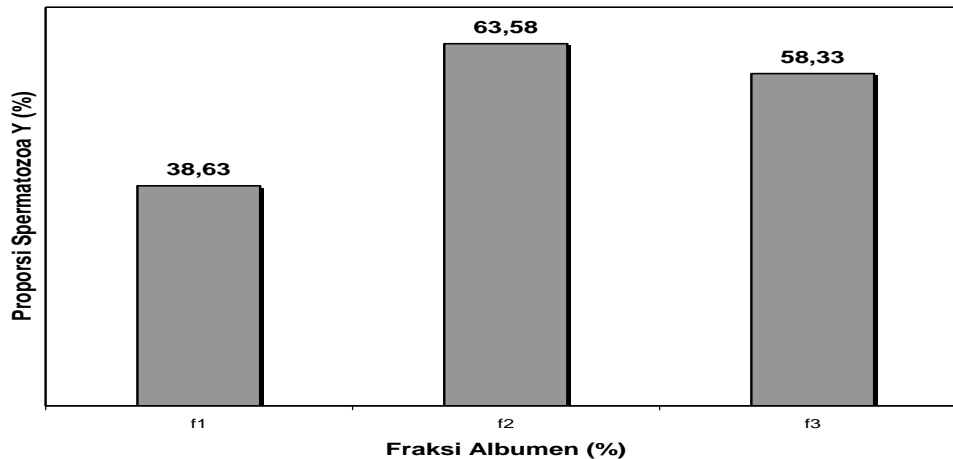
Rataan proporsi spermatozoa Y pada fraksi albumen bagian bawah f₂ berbeda nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan f₁, sedangkan dibandingkan dengan f₃ berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Adapun pada fraksi albumen f₃ berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dibandingkan dengan f₁.

Tidak berpengaruhnya fraksi albumen telur f₂ dengan f₃ dan f₃ dengan f₁ terhadap proporsi spermatozoa Y, diduga viskositas albumen pada lapisan atas berkaitan erat dengan menembusnya sperma X dan Y. Hasil dari Tabel 4, terlihat rata-rata proporsi spermatozoa Y tertinggi pada fraksi albumen lapisan bawah 10 dan 30 % (f₂) sebesar 63,58 %. Penelitian sebelumnya dilaporkan Susilawati (2003) diperoleh spermatozoa X pada lapisan atas 75 %; demikian pula spermatozoa Y pada lapisan bawah 75 %, kemudian oleh Pancastana (1999) diperoleh rata-rata spermatozoa Y pada lapisan atas $36,80 \pm 8,06$ % dan untuk lapisan bawah $77,20 \pm 4,09$ %.

Hasil dari penelitian ternyata dari Gambar 3 di atas diperoleh proporsi spermatozoa Y tertinggi (63,58 %) dari

lapisan bawah pada f₂ yaitu albumen 10 dan 30 %. Hal ini disebabkan oleh perbedaan motilitas spermatozoa X dan Y, sehingga spermatozoa yang mempunyai motilitas tinggi (Y) akan mampu menembus konsentrasi fraksi albumen pekat, sedangkan spermatozoa X akan tetap berada pada medium albumen konsentrasi rendah.

Menurut Sumner dan Robinson (1976) kandungan DNA kepala sperma berhubungan dengan berat massa kepala. Sedangkan menurut Mohri *et al.* (1987), berat dan ukuran kepala spermatozoa X disebabkan oleh adanya kandungan DNA pada kepala spermatozoa X sebanyak 3 - 4 % lebih besar dari pada DNA yang terkandung di dalam kepala spermatozoa Y. Perbedaan tersebut menyebabkan sperma Y mengandung materi genetik yang lebih sedikit, akibatnya sperma Y lebih ringan dan mempunyai gerakan yang lebih cepat dibandingkan dengan sperma X, sehingga memudahkan spermatozoa Y untuk menembus fraksi albumen yang pekat.



Gambar 3. Proporsi Spermatozoa Y pada Berbagai Fraksi Albumen Telur

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini lebih kecil dibandingkan dengan yang dilaporkan peneliti-peneliti sebelumnya diduga adanya perbedaan motilitas, jenis semen, konsentrasi fraksi albumen, waktu dan temperatur inkubasi. Sesuai menurut pendapat Broer *et al.* (1977), daya migrasi atau penetrasi dari sperma Y dapat dipengaruhi oleh pH, temperatur, waktu atau lama penetrasi, tingkat motilitas sperma sebelum perlakuan, dan faktor-faktor lain dalam cairan serviks dan uterus.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Fraksi albumen telur dan lama penyimpanan tidak mempunyai pengaruh bersama terhadap motilitas, abnormalitas, spermatozoa hidup, dan proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan dari semen domba.
2. Fraksi albumen tidak mempengaruhi motilitas, spermatozoa hidup, dan abnormalitas tetapi mempengaruhi perolehan proporsi spermatozoa Y yaitu tertinggi sebesar 63,58 % pada fraksi albumen 10 dan 30 %.

3. Lama penyimpanan tidak mempengaruhi abnormalitas, dan proporsi spermatozoa Y, namun dapat menurunkan motilitas dan spermatozoa hidup. Penyimpanan spermatozoa Y hasil pemisahan menghasilkan rata-rata motilitas dan spermatozoa hidup masing-masing sebesar 61,67 % dan 63,25 % dengan konsentrasi $932,54 \pm 76,34$ juta spermatozoa/ml semen.

Saran

Spermatozoa Y hasil separasi dengan fraksi albumen 10 dan 30 % yang disimpan selama 4 jam pada temperatur 5⁰ C dapat diaplikasikan dilapangan dengan Inseminasi Buatan dan dapat diproses lebih lanjut sebagai semen beku.

Daftar Pustaka

- Broer, K.H, D. Weber, and R. Kaiser. 1977. The Pregnancy of Y-Chromatine positive Spermatozoa during In-Vitro Penetration Test under Various Experimental Conditions. *Fert. Steril.* 28 : 1077 – 1091
- Gaspersz V., 1991. *Teknik Analisis dalam Penelitian*. Tarsito. Bandung.

- Hafez, E.S.E., 1993. *Reproduction in Farm Animals*. 6th. Ed Lea & Febiger, Philadelphia.
- Maxwell, W.M.C., G. Mendoza and I.G. White, 1984. Postthawing Survival of Motile Rams Sperm After Isolation by Layering on Protein Columns. *Theriogenology*, 21 (24).
- Memon, M.A. and R.S. Ott. 1981. Methods of Semen Preservation and Artificial Insemination in Sheep and Goats. *Word. Rev. Anim. Prod.*, 17 : 19 – 25.
- Pamungkas, D., Affandhy, I., Sriyana dan Hartati, 2004. Pemisahan Spermatozoa Pada Sapi Potong Menggunakan Gradien Putih Telur. *Loka Penelitian Sapi Potong Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan*. Badan Litbang Pertanian. Departemen Pertanian.
- Pancahastana H., 1999. *Upaya Merubah Sex Rasio Spermatozoa dengan Melakukan Pemisahan Spermatozoa X dan Y Menggunakan Putih Telur pada Sapi Bali*. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Salisbury, G.W. and N.L. VanDemark, 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. *Alih bahasa* : R. Djanuar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Shukla, S.N., B.B. Singh, N.S. Tomar and B.S. Misra. 1992. Factors Affecting Prematozoon Motility in Preserved Semen. *Indian Vet J.* 69 : 856 – 857.
- Sumner, AT. and JA. Robinson. 1976. A difference in Dry Mass between the Head of X- and Y- Bearing Human Spermatozoa. *J. Reprod Fert.*, 8 : 9 – 14.
- Susilawati P., Hermanto, P. Srianto, dan E. Yuliani. 2002. Pemisahan Spermatozoa X dan Y pada Sapi Brahman menggunakan Gradien Putih Telur pada Pengencer Tris dan Tris Kuning Telur. *Jurnal Ilmu Hayati (Life Sciences)*. Vol. 14. No. 2. Desember. Hal. 176 – 183.
- Susilawati T. 2003. Inseminasi Buatan dengan Spermatozoa Beku Hasil Sexing pada Sapi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. *Makalah pada Kongres Persatuan Teknologi Reproduksi Indonesia*. Denpasar Bali. Hal 1 – 20.
- Toelihere, M.R., 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- White, I.G., 1980. Secretion of Male Reproductive Tract Seminal Plasma. In E.S.E. Hafez. ed. *Reproduction in Farm Animals*. Lea & Febiger. Philadelphia.